

REF



SYSTEM

08086664190

08086664500

300

cobas e 402

cobas e 801

Italiano

Informazioni relative al sistema

| Nome abbreviato | ACN (<i>application code number</i> – codice di applicazione) |
|-----------------|----------------------------------------------------------------|
| AHAV 2 | 10156 |

Finalità d'uso

Test immunologico per la determinazione qualitativa *in vitro* degli anticorpi totali (IgG ed IgM) diretti contro il virus dell'epatite A (HAV) nel siero e nel plasma umani. Il test viene impiegato per coadiuvare la diagnosi di un'infezione da epatite A pregressa o in corso nonché per rilevare la presenza di una risposta anticorpale all'HAV nei soggetti vaccinati.

L'esecuzione dell'ImmunoAssay in ElettroChemiLuminescenza "ECLIA" è destinata all'uso sugli immunoanalizzatori **cobas e**.

Sommario

Il virus dell'epatite A (HAV) è un virus contenente RNA a filamento singolo, privo di involucro e appartenente alla famiglia dei picornavirus. Finora sono stati descritti solo un unico sierotipo umano e 6 genotipi, dei quali 3 colpiscono gli esseri umani (genotipi I, II e III).¹ Inizialmente erano stati descritti 7 genotipi, ma le analisi effettuate successivamente suggeriscono che i genotipi II e VII sono sottotipi del genotipo II.² Il capsido virale è costituito da 3 proteine strutturali principali (VP1-VP3) e una quarta proteina putativa (VP4) che, sulla superficie della particella virale, formano una struttura immunodominante e altamente conservata tra tutti i genotipi, contro la quale è diretta la risposta immunitaria dopo vaccinazione o infezione naturale.^{1,3}

L'HAV è una delle cause più frequenti di ittero infettivo, e la sua trasmissione avviene per via oro-fecale. L'HAV causa epatite acuta e non è associato alle epatopatie croniche poiché il virus non persiste nell'organismo.^{1,3}

L'anti-HAV totale (IgM e IgG anti-HAV) è positivo già all'inizio dei sintomi ed è dovuto alla presenza di IgM.⁴ Dopo un'infezione naturale, l'IgG anti-HAV, di solito, è rilevabile nella primissima fase dell'infezione, rimane rilevabile per tutta la vita del soggetto e ha come effetto la protezione dalla malattia in caso di una reinfezione.^{4,5}

Oggi sono disponibili vaccini contro l'HAV nonché vaccini combinati contro l'epatite A e l'epatite B.^{3,4} L'IgG anti-HAV è rilevabile a circa 2 settimane dalla vaccinazione contro l'HAV. In caso di un'immunizzazione completa sussiste, normalmente, una protezione pluriennale. Per definire una risposta anticorpale protettiva, negli studi clinici relativi al vaccino si sono tipicamente usati livelli di anti-HAV > 20 IU/L, mentre in alcuni studi sono stati usati livelli > 10 IU/L.^{5,6,7} Un risultato positivo di anti-HAV indica protezione immunitaria. Tuttavia, dopo vaccinazione, anche le persone negative per anti-HAV (<20 IU/L) possono presentare livelli protettivi dell'anticorpo. Il limite inferiore assoluto di anti-HAV necessario per evitare un'infezione da HAV non è ancora stato definito. Gli studi effettuati *in vitro* impiegando preparazioni virali derivanti da colture cellulari, mostrano che l'anticorpo a livelli bassi (ad es. <20 IU/L) può essere neutralizzante.⁸

I test per la rilevazione degli anticorpi anti-HAV vengono impiegati per la diagnosi di un'infezione da HAV pregressa o in corso o per monitorare la risposta immunitaria dopo una vaccinazione contro l'HAV.¹

Principio del test

Principio di competizione. Durata complessiva del test: 18 minuti.

- 1^a incubazione: 12 µL di campione; l'anti-HAV presente nel campione si lega all'antigene dell'HAV aggiunto.
- 2^a incubazione: dopo l'aggiunta di anticorpi biotinilati e di anticorpi specifici contro l'antigene dell'HAV, marcati con un complesso di rutenio^{a)}, nonché di microparticelle rivestite di streptavidina, vengono occupati i siti di legame ancora liberi degli antigeni dell'HAV, ed il complesso totale si lega alla fase solida mediante l'interazione biotina-streptavidina.

- La miscela di reazione viene aspirata nella cella di misura dove le microparticelle vengono attratte magneticamente alla superficie dell'elettrodo. Successivamente si eliminano le sostanze non legate impiegando ProCell II M. Applicando una tensione all'elettrodo, si induce l'emissione chemiluminescente che viene misurata mediante il fotomoltiplicatore.
- I risultati vengono calcolati automaticamente dal software, confrontando il segnale elettrochemiluminescente proveniente dal prodotto di reazione del campione con quello del valore di cutoff, ottenuto precedentemente mediante calibrazione.

a) Complesso di rutenio (II) tris(2,2'-bipiridile) (Ru(bpy)₃²⁺)

Reattivi – soluzioni pronte all'uso

Il **cobas e** pack (M, R1, R2) è contrassegnato con AHAV 2.

- M Microparticelle rivestite di streptavidina, 1 flacone, 12.4 mL: microparticelle rivestite di streptavidina 0.72 mg/mL; conservante.
- R1 Ag dell'HAV, 1 flacone, 21 mL: antigene dell'HAV (coltura cellulare) 28 U/mL (unità Roche); tampone TRIS 20 mmol/L, pH 7.2; conservante.
- R2 Anticorpi anti-HAV~biotina; anticorpi anti-HAV~Ru(bpy)₃²⁺, 1 flacone, 19 mL: anticorpo (murino) monoclonale biotinilato anti-HAV 0.25 µg/mL; anticorpo (murino) monoclonale anti-HAV marcato con un complesso di rutenio 0.65 µg/mL; tampone TRIS 20 mmol/L, pH 7.2; conservante.
- AHAV 2 Cal1 Calibratore negativo 1, 1 flacone da 1.0 mL: siero umano; conservante.
- AHAV 2 Cal2 Calibratore positivo 2, 1 flacone da 1.0 mL: anti-HAV (umano) ca. 60 IU/L, in siero umano; conservante.

Precauzioni e avvertenze

Per uso diagnostico *in vitro*.

Osservare le precauzioni normalmente adottate durante la manipolazione dei reagenti di laboratorio.

Lo smaltimento di tutti i rifiuti deve avvenire secondo le direttive locali. Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta per gli utilizzatori professionali.

Questa confezione contiene componenti classificati, secondo il Regolamento (CE) N. 1272/2008, come segue:

2-methyl-2H-isothiazol-3-one hydrochloride

EUH 208 Può provocare una reazione allergica.

L'etichettatura relativa alla sicurezza del prodotto è conforme al regolamento GHS UE.

Tutto il materiale di origine umana deve essere considerato come potenzialmente infettivo. Per la preparazione di tutti i prodotti derivati da sangue umano viene utilizzato solo sangue di donatori che sono stati testati individualmente e sono risultati negativi per la ricerca di HBsAg e di anticorpi anti-HCV e anti-HIV. Per i metodi di dosaggio sono stati impiegati test approvati dall'FDA o rilasciati in conformità con la Direttiva Europea 98/79/CE, Allegato II, Lista A.

Poiché non è comunque possibile escludere con sicurezza il pericolo di infezione con nessun metodo di dosaggio, è necessario manipolare il materiale con le stesse precauzioni adottate per i campioni prelevati dai pazienti. Nel caso di una esposizione, si deve procedere secondo le specifiche indicazioni sanitarie.^{9,10}

Evitare la formazione di schiuma in tutti i reattivi e tipi di campione (campioni, calibratori e controlli).

Utilizzo dei reattivi

I reattivi della confezione (M, R1, R2), forniti nel **cobas e** pack, sono pronti all'uso.

Calibratori

I calibratori forniti sono pronti all'uso e contenuti in flaconi compatibili con il sistema.

Se, per la calibrazione sull'analizzatore, non è necessario l'intero volume, trasferire le aliquote dei calibratori pronti all'uso in flaconi vuoti con chiusura a scatto (CalSet Vials). Incollare le etichette fornite nella confezione sui rispettivi flaconi. Conservare le aliquote a 2-8 °C per impieghi successivi.

Ogni aliquota può essere utilizzata per una sola calibrazione.

Tutte le informazioni necessarie per l'utilizzo corretto sono disponibili tramite **cobas** link.

Conservazione e stabilità

Conservare a 2-8 °C.

Non congelare.

Conservare il **cobas e** pack in **posizione verticale** in modo da garantire la completa disponibilità delle microparticelle durante il mescolamento automatico prima dell'uso.

| Stabilità del cobas e pack: | |
|------------------------------------|-------------------------------------|
| prima dell'apertura a 2-8 °C | fino alla data di scadenza indicata |
| sugli analizzatori | 16 settimane |

| Stabilità dei calibratori: | |
|-------------------------------|-------------------------------------|
| prima dell'apertura a 2-8 °C | fino alla data di scadenza indicata |
| dopo la prima apertura | 16 settimane |
| sugli analizzatori a 20-25 °C | per 1 impiego unico |

Conservare i calibratori in **posizione verticale** per evitare l'adesione del liquido di calibrazione nel tappo con chiusura a scatto.

Prelievo e preparazione dei campioni

Solo i tipi di campione elencati di seguito sono stati testati e risultano accettabili.

Siero, prelevato con provette standard per prelievi di campioni o con provette contenenti gel di separazione.

Plasma con litio eparina, sodio eparina, K₂-EDTA, K₃-EDTA, ACD, CPD, CP2D, CPDA e citrato di sodio.

È possibile impiegare provette per plasma che contengono gel di separazione.

Criterio di valutazione: assegnazione corretta dei campioni positivi e negativi. Campioni con un ICO (indice di cutoff) > 1.0: recupero ±20 % rispetto al riferimento sierico; campioni con un ICO ≤ 1.0: recupero ±0.20 ICO rispetto al riferimento sierico.

Stabilità: 6 giorni a 20-25 °C, 14 giorni a 2-8 °C, 3 mesi a -20 °C (± 5 °C). I campioni possono essere congelati 5 volte.

I tipi di campione elencati sono stati testati impiegando una selezione di provette per il prelievo di campioni disponibili in commercio al momento dell'analisi; non sono, quindi, state testate tutte le provette disponibili di tutte le case produttrici. Alcuni sistemi per il prelievo di campioni di vari produttori possono contenere diversi materiali e in alcuni casi possono interferire sui risultati del test. Quando si trattano i campioni in provette primarie (sistemi per il prelievo di campioni), seguire le istruzioni del produttore delle provette.

I campioni contenenti precipitati e quelli scongelati devono essere centrifugati prima dell'esecuzione del test.

Non impiegare campioni inattivati a caldo.

Non impiegare campioni e controlli stabilizzati con azide.

Assicurarsi che i campioni ed i calibratori al momento della misura siano alla temperatura di 20-25 °C.

Per evitare un'eventuale evaporazione, analizzare/misurare i campioni e calibratori che si trovano sugli analizzatori entro 2 ore.

Le prestazioni del test Elecsys Anti-HAV II non sono state stabilite con campioni cadaverici o fluidi corporei diversi da siero e plasma.

Materiali a disposizione

- Per i reattivi, vedere la sezione "Reattivi – soluzioni pronte all'uso".
- 2 x 6 etichette per flaconi

Materiali necessari (ma non forniti)

- [REF] 08086672190, PreciControl Anti-HAV II, per 8 x 1.3 mL
 - [REF] 11776576322, CalSet Vials, 2 x 56 flaconi vuoti con chiusura a scatto
 - Normale attrezzatura da laboratorio
 - Analizzatore **cobas e**
- Altri materiali per gli analizzatori **cobas e** 402 e **cobas e** 801:
- [REF] 06908799190, ProCell II M, 2 x 2 L di soluzione di sistema
 - [REF] 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 L di soluzione di lavaggio per celle di misura
 - [REF] 07485409001, Reservoir Cup, 8 coppette per la fornitura di ProCell II M e CleanCell M
 - [REF] 06908853190, PreClean II M, 2 x 2 L di soluzione di lavaggio
 - [REF] 05694302001, Assay Tip/Assay Cup tray, 6 pile da 6 supporti, ciascuno contenente 105 puntali e 105 cuvette per il test, 3 scatole di cartone per rifiuti
 - [REF] 07485425001, Liquid Flow Cleaning Cup, 2 coppette adapter per fornire ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean alla Liquid Flow Cleaning Detection Unit
 - [REF] 07485433001, PreWash Liquid Flow Cleaning Cup, 1 coppetta adapter per fornire ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean alla Liquid Flow Cleaning PreWash Unit
 - [REF] 11298500316, ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean, 5 x 100 mL di soluzione di lavaggio per il sistema

Esecuzione

Per una performance ottimale del test, attenersi alle indicazioni riportate nel presente documento per l'analizzatore in questione. Per le istruzioni specifiche dell'analizzatore relative all'esecuzione del test, consultare il manuale d'uso dello strumento.

La risospensione delle microparticelle prima dell'uso avrà luogo automaticamente.

Collocare il **cobas e** pack refrigerato (conservato a 2-8 °C) sul reagent manager. Evitare la formazione di schiuma. La regolazione della temperatura esatta dei reattivi nonché l'apertura e la chiusura del **cobas e** pack avranno luogo automaticamente nello strumento.

Calibratori

Collocare i calibratori nelle posizioni dedicate per i campioni.

Leggere nello strumento tutti i dati necessari per la calibrazione del test.

Calibrazione

Tracciabilità: il test Elecsys Anti-HAV II è tracciabile al "Second International Standard for Anti-Hepatitis A, immunoglobulin, human, NIBSC code 97/646" dell'NIBSC (*National Institute for Biological Standards and Control*) attraverso il confronto con il metodo Elecsys Anti-HAV (test di prima generazione) come riferimento.

Frequenza di calibrazione: effettuare una calibrazione per ogni lotto di reattivo con AHAV 2 Cal1, AHAV 2 Cal2 e reattivo fresco (al massimo 24 ore dopo l'identificazione del **cobas e** pack sull'analizzatore).

L'intervallo di calibrazione può essere esteso in base a valori accettabili della verifica di calibrazione da parte del laboratorio.

Si consiglia di ripetere la calibrazione come segue:

- dopo 8 settimane se si impiega lo stesso lotto di reagente
- dopo 28 giorni se si impiega lo stesso **cobas e** pack sull'analizzatore
- all'occorrenza: ad es. se un controllo di qualità si trova al di fuori dei limiti definiti

Controllo di qualità

Per il controllo di qualità, impiegare PreciControl Anti-HAV II.

I controlli per le diverse concentrazioni devono essere eseguiti individualmente almeno 1 volta ogni 24 ore quando il test è in uso, al cambio di ogni **cobas e** pack e dopo ogni calibrazione.

Elecsys Anti-HAV II

Gli intervalli ed i limiti del controllo dovranno essere conformi alle esigenze individuali di ogni laboratorio. I valori ottenuti devono rientrare nei limiti definiti. Ogni laboratorio deve definire delle misure correttive da attuare nel caso che alcuni valori siano al di fuori dei limiti definiti.

Se necessario, va ripetuta la misura dei corrispondenti campioni.

Per il controllo di qualità, attenersi alle normative vigenti e alle linee guida locali.

Calcolo

L'analizzatore effettua il calcolo automatico del cutoff in base alla misura di AHAV 2 Cal1 e di AHAV 2 Cal2.

Il risultato di un campione viene indicato come reattivo o come non reattivo nonché come indice di cutoff (ICO; segnale campione/cutoff).

Interpretazione dei risultati

| Risultato numerico | Messaggio relativo al risultato | Interpretazione |
|--------------------|---------------------------------|-------------------------------------------|
| ICO > 1.0 | Non reattivi | Negativo per anticorpi specifici anti-HAV |
| ICO ≤ 1.0 | Reattivi | Positivo per anticorpi specifici anti-HAV |

Il cutoff del test Elecsys Anti-HAV II è stato determinato in un'ampia coorte di donatori di sangue e pazienti ospedalizzati, impiegando come riferimento il test Elecsys Anti-HAV di prima generazione, il quale ha un cutoff di 20 IU/L. Il cutoff del test Elecsys Anti-HAV II corrisponde quindi a 20 IU/L.

Valori dell'ICO ≤ 1.0 indicano un'infezione da epatite A pregressa o in corso oppure la presenza di anticorpi anti-HAV in seguito ad una vaccinazione contro l'epatite A.

Limiti del metodo – interferenze

È stato testato l'effetto delle seguenti sostanze endogene e dei seguenti composti farmaceutici sulla performance del test. Testando le interferenze fino alle concentrazioni elencate, non è stata osservata alcuna influenza sui risultati.

Sostanze endogene

| Composto | Concentrazione testata |
|--------------------|----------------------------------|
| Bilirubina | ≤1129 μmol/L oppure ≤66 mg/dL |
| Emoglobina | ≤0.621 mmol/L oppure ≤1000 mg/dL |
| Intralipid | ≤2000 mg/dL |
| Biotina | ≤573 nmol/L oppure ≤140 ng/mL |
| Fattori reumatoidi | ≤1400 IU/mL |
| IgG | ≤7.0 g/dL |
| IgA | ≤1.6 g/dL |
| IgM | ≤1.0 g/dL |

Criterio di valutazione:
campioni con ICO > 1.0: recupero ±20 %
campioni con ICO ≤ 1.0: recupero ±0.20 ICO

Ai pazienti sottoposti a terapia con alti dosaggi di biotina (>5 mg/die), il campione dovrà essere prelevato almeno 8 ore dopo l'ultima somministrazione di biotina.

Sostanze farmaceutiche

Tra 18 farmaci di frequente impiego, testati *in vitro*, non si è osservata alcuna interferenza con il test.

In casi rari possono riscontrarsi interferenze causate da titoli estremamente alti di anticorpi diretti contro anticorpi specifici anti-analita, di anticorpi anti-streptavidina o di anticorpi anti-rutenio. Tali effetti sono ridotti al minimo attraverso un procedimento appropriato del test.

Ai fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati congiuntamente con la storia clinica del paziente, con gli esami clinici e con altre evidenze cliniche.

Dati specifici sulla performance del test

Qui di seguito sono riportati i dati rappresentativi delle prestazioni sugli analizzatori. I risultati dei singoli laboratori possono differire da questi.

Precisione

La precisione è stata determinata impiegando reattivi Elecsys, campioni e controlli, eseguiti in base ad un protocollo (EP05-A3) del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*): 2 serie al giorno, ciascuna in duplicato, per 21 giorni (n = 84). Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

| Analizzatori cobas e 402 e cobas e 801 | | | | | |
|----------------------------------------|-----------|--------------|------|-----------------------|------|
| Campione | Media ICO | Ripetibilità | | Precisione intermedia | |
| | | DS ICO | CV % | DS ICO | CV % |
| Siero umano 1 | 1.41 | 0.012 | 0.9 | 0.028 | 2.0 |
| Siero umano 2 | 1.13 | 0.012 | 1.1 | 0.025 | 2.2 |
| Siero umano 3 | 0.932 | 0.010 | 1.1 | 0.023 | 2.4 |
| Siero umano 4 | 0.645 | 0.009 | 1.5 | 0.023 | 3.5 |
| Siero umano 5 | 0.006 | 0.0001 | 1.3 | 0.0001 | 2.4 |
| PC ^{b)} Anti-HAV II 1 | 1.30 | 0.012 | 0.9 | 0.027 | 2.1 |
| PC Anti-HAV II 2 | 0.318 | 0.005 | 1.6 | 0.010 | 3.0 |

b) PC = PreciControl

Specificità analitica

Non sono state osservate reazioni crociate con HBV, HCV, HIV, CMV, EBV, HSV, *Toxoplasma gondii*, rosolia, parotite/morbillo, parvovirus B19 e *Treponema pallidum*.

Sono stati misurati tutti questi patogeni, impiegando complessivamente 120 campioni di siero o di plasma umani che sono risultati positivi per anticorpi diretti contro tali patogeni oppure contenevano autoanticorpi (ANA).

Dati clinici

Negli studi clinici, effettuati per valutare la sensibilità relativa e la specificità relativa del test, sono stati utilizzati campioni provenienti da svariate fonti internazionali.

Sensibilità clinica

La sensibilità relativa è risultata essere il 100 % nei campioni prelevati da soggetti vaccinati contro l'HAV, da soggetti con infezione acuta o da soggetti guariti da un'infezione naturale da HAV.

| | N | Sensibilità % | IC ^{c)} al 95 % (bilaterale) % |
|-----------------------------------------------|-----|---------------|-----------------------------------------|
| Soggetti vaccinati contro l'epatite A | 238 | 100 | 98.45-100 |
| Soggetti con infezione acuta da epatite A | 234 | 100 | 98.44-100 |
| Soggetti guariti da un'infezione da epatite A | 256 | 100 | 98.57-100 |

c) IC = intervallo di confidenza

Specificità clinica

Complessivamente 874 campioni confermati negativi per anti-HAV, prelevati da soggetti nell'ambito di richieste di routine di una determinazione dell'anti-HAV, e 580 campioni confermati negativi per anti-HAV, prelevati da donatori di sangue, sono stati determinati con il test Elecsys Anti-HAV II.

| | N ^{d)} | Specificità % | IC al 95 % (bilaterale) % |
|-----------------------------------------------------------------------|-----------------|---------------|---------------------------|
| Donatori di sangue | 577 | 99.48 | 98.49-99.89 |
| Soggetti con richiesta di routine di una determinazione dell'anti-HAV | 871 | 99.66 | 99.00-99.93 |

d) Numero di soggetti con un risultato negativo nel test Elecsys Anti-HAV II

Letteratura

- 1 Hollinger FB, Emerson SU. Hepatitis A virus. In: Fields Virology, Knipe DM, Howley PM (eds), 2007 5th edition, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, USA. Chapter 27, pp911-947.
- 2 Lu L, Ching KZ, de Paula SV, et al. Characterization of the complete genomic sequence of genotype II hepatitis A virus (CF53/Berne isolate). J Gen Virol 2004;855:2943-2952.
- 3 Martin A, Lemon SM. Hepatitis A virus: from discovery to vaccines. Hepatology 2006 Feb;43(2 Suppl 1):S164-172.
- 4 Wasley A, Fiore A, Bell BP. Hepatitis A in the era of vaccination. Epidemiol Rev 2006;28:101-111.
- 5 Tilzey, AJ, Palmer SJ, Barrow S, et al. Clinical trial with inactivated hepatitis A vaccine and recommendations for its use. BMJ 1992;304:1272-1276.
- 6 Briem H, Safary A. Immunogenicity and Safety in Adults of Hepatitis A Virus Vaccine Administered as a Single Dose With a Booster 6 Months Later. J Med Virol 1994;44:443-445.
- 7 Ambrosch F, Finkel B, Herzog C, et al. Rapid Antibody Response after Vaccination with a Virosomal Hepatitis A Vaccine. Infection 2004;32:149-152.
- 8 Lemon SM, Binn LN. Serum Neutralizing Antibody Response to Hepatitis A Virus. J Infect Dis 1983;148:1033-1039.
- 9 Occupational Safety and Health Standards: Bloodborne pathogens. (29 CFR Part 1910.1030). Fed. Register.
- 10 Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.

Per ulteriori informazioni, consultare il manuale d'uso appropriato per il relativo analizzatore, i rispettivi fogli di applicazione, la Product Information e le metodiche di tutti i componenti necessari (se disponibili nel vostro paese).

In questa metodica, per separare la parte intera da quella frazionaria in un numero decimale si usa sempre il punto. Il separatore delle migliaia non è utilizzato.

Simboli

Oltre a quelli indicati nello standard ISO 15223-1, Roche Diagnostics impiega i seguenti simboli (per gli USA: per la definizione dei simboli impiegati, vedere dialog. Roche.com):

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
|  | Contenuto della confezione |
|  | Analizzatori/strumenti su cui i reagenti possono essere usati |
|  | Reattivo |
|  | Calibratore |
|  | Volume dopo ricostituzione o mescolamento |
|  | Global Trade Item Number |

Le aggiunte, cancellazioni o modifiche sono indicate mediante una linea verticale posizionata al margine.

© 2020, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.Roche.com

